云 南 植 物 研 究 1987; 9 (2): 246
Acta Botanica Yunnanica

烟草花叶病毒外壳蛋白嵌合基因的重组（简报）

王 钧 胡运乾

（中国科学院昆明植物研究所）
（中国科学院上海植物生理研究所）

RECOMBINATION OF A CHIMERIC COAT PROTEIN GENE OF TOBACCO MOSAIC VIRUS

Wang Jun, Hu Yunqiang

(Kunming Institute of Botany, Academia Sinica)
(Shanghai Institute of Plant Physiology, Academia Sinica)

关键词 烟草花叶病毒；嵌合基因；外壳蛋白；Ti质粒
Key words Tobacco Mosaic Virus; Chimeric gene; Coat protein; Ti plasmid

烟草花叶病在云南烟区普遍流行。通过ELISA和RNA斑点杂交法，我们已证明云南烟区烟草花叶病毒外壳蛋白和已知RNA序列的普通烟草花叶病毒OM株同源。我们拟根据交叉保护原理，通过植物基因工程手段来培育抗烟草花叶病的烟草新品种。为此，对OM株外壳蛋白基因进行了下述重组工作。

首先，我们对OM株外壳蛋白基因工作，得到C-DNA株pCK501。然后，切取其中带外壳蛋白基因的667bp Hinf Ⅰ片段，导入带花椰菜花叶病毒35S启动子和3′未端质粒pDH51的聚核苷酸接头中，组成带烟草花叶病毒外壳蛋白基因的嵌合基因的重组质粒pCK401。又把整个嵌合基因导入pGV1103 neo，和嵌合的新霉素磷酸转移酶Ⅱ（NPT Ⅱ）基因及新霉素磷酸转移酶Ⅰ（NPT Ⅰ）基因相连接，组成中间载体pCK403。最后在大肠杆菌GJ23帮助下，把pCK403导入土壤杆菌，和土壤杆菌中原有的去了致瘤基因的Ti载体pGV3850的T-DNA区pBR322片段进行同源重组，把嵌合基因导入Ti质粒的T-DNA区，得到pACK403。

这个嵌合的外壳蛋白基因含最强的植物启动子——花椰菜花叶病毒35S启动子，预期在植物中会转录出大量外壳蛋白的mRNA；又由于保留完整的外壳蛋白5′非转译区顺序，加上嵌合mRNA也会有较强的转译活性。和嵌合的外壳蛋白基因连接的嵌合NPT Ⅱ基因在植物中会表达抗卡那霉素活性，在用pACK403来转化植物时，容易从未转化细胞中挑出带嵌合外壳蛋白基因的细胞。目前，通过pACK403和烟草共培养进行植物转化的工作正在进行之中。